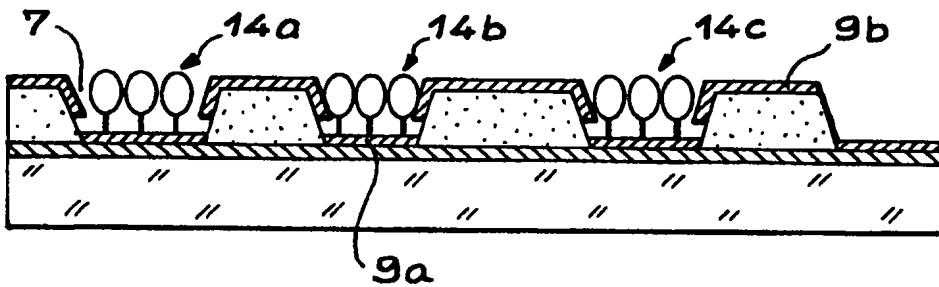


## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 7 : <b>B01L 3/00, B01J 19/00, G01N 27/00, 33/487</b>	A2	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 00/07728</b> (43) Date de publication internationale: <b>17 février 2000 (17.02.00)</b>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: <b>PCT/FR99/01900</b></p> <p>(22) Date de dépôt international: <b>30 juillet 1999 (30.07.99)</b></p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 98/09868                    31 juillet 1998 (31.07.98)                    FR</p>		<p>(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i></p>
<p>(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): COMMISARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): CAILLAT, Patrice [FR/FR]; 10, rue de Provence, F-38130 Echirolles (FR). CLERC, Jean-Frédéric [FR/FR]; 8, rue du Mont Pertuis, F-38120 Le Fontanil (FR).</p> <p>(74) Mandataire: LEHU, Jean; Brevatome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).</p>		

(54) Title: MICRO-SYSTEM WITH MULTIPLE POINTS FOR CHEMICAL OR BIOLOGICAL ANALYSIS

(54) Titre: MICRO-SYSTEME A MULTIPLES POINTS D'ANALYSE CHIMIQUE OU BIOLOGIQUE



## (57) Abstract

The invention concerns a micro-system with multiple points for chemical or biological analysis consisting of a structure provided with micro-cups (7), each micro-cup designed to receive a reagent (14a, 15a, 16a) coupled with a conductor polymer, each micro-cup having a receiving electrode (9a) whereon is fixed the reagent via of the polymer conductor with which it is coupled, each micro-cup having a counter-electrode (9b) arranged so as to apply, in a volume of the micro-cup, an electric field between its counter-electrode and its receiving electrode, the structure having means for simultaneously connecting all the receiving electrodes to a first electric potential and means for simultaneously connecting all the counter-electrodes to a second electric potential for generating said electric field.

**(57) Abrégé**

L'invention concerne un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique constitué par une structure pourvue de micro-cuvettes (7), chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif (14a, 15a, 16a) couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a) sur laquelle est fixé le réactif par l'intermédiaire du polymère conducteur auquel il est couplé, chaque micro-cuvette possédant une contre-électrode (9b) disposée de façon à pouvoir appliquer, dans un volume de la micro-cuvette, un champ électrique entre sa contre-électrode et son électrode de réception, la structure possédant des moyens permettant de relier simultanément toutes les électrodes de réception à un premier potentiel électrique et des moyens permettant de relier simultanément toutes les contre-électrodes à un deuxième potentiel électrique pour pouvoir établir ledit champ électrique.

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		

**MICRO-SYSTEME A MULTIPLE POINTS D'ANALYSE CHIMIQUE OU  
BIOLOGIQUE**

5    **Domaine technique**

La présente invention concerne un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique.

10           La micro-électronique classique est de plus en plus appelée à être un maillon de systèmes beaucoup plus complexes dans lesquels plusieurs fonctions sont intégrées. Ces systèmes ou micro-systèmes vont des applications capteurs physiques aux derniers 15 développements de puces dites "biologiques".

Dans le premier cas, une cellule sensible capable de mesurer un phénomène physique est associée à un circuit intégré capable d'assurer le traitement de l'information et son exploitation. C'est le cas des 20 coussins pneumatiques de sécurité de l'industrie automobile (connus sous le nom de "air-bag" dans la terminologie anglo-saxonne).

Dans le deuxième cas, un circuit intégré subit une finition lui permettant d'être utilisé dans 25 un milieu biologique. C'est le cas par exemple d'un mesureur de glucose intégré ou des sondes de pression sanguine.

Dans tous les cas, l'interface entre le milieu de la micro-électronique classique et celui des 30 capteurs ou des biologistes est l'élément clef de ces micro-systèmes.

L'analyse chimique ou biologique est en train de subir la révolution de la miniaturisation liée à l'utilisation des microtechnologies. Lorsque des 35 tests multiples peuvent être regroupés sur un support

de quelques mm<sup>2</sup>, les coûts sont réduits et une analyse naguère exceptionnelle peut être utilisée de façon courante.

La demande vers des systèmes permettant l'analyse chimique ou biologique à très grand nombre de points est en émergence à l'heure actuelle avec l'apparition du screening en pharmacologie et des tests ADN en biologie.

Dans le premier cas, il faut déterminer sur un support comportant un grand nombre de cuvettes remplies du même réactif, l'effet de différentes molécules que l'on dépose sélectivement dans chaque cuvette de façon séquentielle. Dans le deuxième cas chaque cuvette est remplie d'une sonde ADN différente et l'analyte dont on veut connaître la séquence génomique est mis en contact au moment de l'analyse avec l'ensemble des cuvettes. En chimie analytique également la demande est forte vers la miniaturisation des cuvettes de réactions chimiques.

Tant d'un point de vue réalisation des cuvettes, dépôt des liquides dans ces cuvettes que système de lecture et d'acquisition des résultats, les efforts en Recherche et Développement sont importants.

## 25 Etat de la technique antérieure

Dans le domaine de l'analyse biologique ou plus généralement des tests en pharmacologie de nouvelles molécules, la réduction de la taille de l'outil de test est extrêmement séduisante d'un point de vue économique. Plus précisément, on peut assimiler un micro-système d'analyse à une structure associant un support sur lequel des réactifs différents sont tout d'abord fixés puis mis en présence de la solution à analyser, et une méthode permettant de mesurer la

réactivité obtenue. Eventuellement, un traitement dans le micro-système lui-même de l'information obtenue peut être prévu.

Il existe différentes techniques pour fixer  
5 des réactifs différents sur un substrat.

Une première technique consiste à activer des sites où seront ensuite déposés et fixés les réactifs par des molécules chimiques diverses. C'est une technique principalement employée sur des substrats  
10 en verre. Les réactifs sont déposés par micro-pipettage ou par une technique du type jet d'encre. Côté chimie, pour assurer l'interface entre le substrat et le réactif, on peut citer les silanes, les lysines, les thioles lorsque le substrat est préalablement recouvert  
15 d'or. Cette chimie est complexe, surtout lorsqu'il s'agit de maîtriser sa reproductibilité sur un substrat pouvant comporter quelques milliers de sites différents. On peut citer, comme représentatif de cette  
20 technique, le brevet US 5 474 796 qui se rapporte à la structuration de surface : les réactifs sont fixés sur un substrat présentant des zones hydrophiles et des zones hydrophobes. Le matriçage obtenu est de ce fait très régulier.

Selon une deuxième technique appliquée au  
25 domaine des puces à ADN (le réactif est une sonde ADN, notamment un oligonucléotide d'une vingtaine de bases), il a été proposé de construire la sonde base après base sur chaque site. Il est connu d'utiliser des masquages successifs pour faire cette synthèse *in situ* : chaque  
30 site est recouvert d'une base photoprotégée. Le photomasquage permet ensuite d'ôter la protection des sites et de venir accrocher chimiquement une base supplémentaire photoprotégée. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention, sur chaque site, de la sonde  
35 voulue. Il est actuellement possible de construire

plusieurs dizaines de milliers de sondes différentes sur un substrat. Cette technique est excellente mais elle ne permet pas d'obtenir des sondes à grand nombre de bases (la limite est d'environ 20). Il est possible 5 également de fixer au départ une base protégée non plus par un radical photosensible mais par un radical chimiquement sensible. Il faut alors, par pipettage ou par une technique du type jet d'encre, venir localement sur les sites choisis pour ôter la protection de la 10 base existante et y accrocher une base supplémentaire.

Une troisième technique concerne l'électrodéposition sur site polarisé électriquement d'un polymère conducteur porteur de l'espèce réactive choisie. On peut se reporter à ce sujet à l'article 15 "Electropolymerization of pyrrole and immobilization of glucose oxidase in a flow system : influence of the operating conditions on analytical performance" de Juan-C. VIDAL et al., paru dans Biosensors & Bioelectronics, vol. 13, No 3-4, pages 371-382, 1998. 20 Le substrat est relié électriquement vers l'extérieur et trempé dans une cuve contenant l'espèce chimique à déposer. Le site choisi est polarisé et la copolymérisation s'effectue (en moins d'une minute sous une tension inférieure à 1 V). On passe à une autre 25 solution porteuse d'un autre réactif, un autre site est polarisé à la surface du substrat et ainsi de suite. Par ce moyen, des réactifs différents ont été fixés sur des zones différentes du substrat, permettant ainsi une analyse multipoint.

30 Une amélioration intéressante de cette dernière technique consiste à intégrer l'électronique d'adressage des sites dans le substrat lui-même. Les polymères conducteurs utilisés pour ce procédé sont les polyanilines, les polypyrrroles. On peut se reporter à 35 ce sujet aux documents WO 94/22 889, FR-A-2 741 475 et

FR-A-2 741 476. Cette façon de faire est intéressante car la fixation de la sonde sur son site est forte, reproductible et bien maîtrisée. C'est une technique séquentielle : chaque site est polarisé successivement 5 et le substrat est recouvert totalement ou trempé dans la solution porteuse du réactif à chaque passe. Cependant, lorsque le nombre de sites devient important, le temps de traitement de chaque support de sites devient prohibitif : autant de fois le temps de 10 copolymérisation plus le temps de rinçage et d'introduction du nouvel électrolyte.

L'utilisation de ces dispositifs à sondes biologiques peut faire appel à une palette très étendue de méthodes : mesure électrique par impédance-métrie, 15 microbalance, mesure optique par changement d'indice de réfraction, marquage radioactif, fluorescence. Cette dernière méthode est de plus en plus utilisée car elle est relativement facile à mettre en oeuvre et elle présente une bonne sensibilité. Schématiquement, elle 20 consiste à coupler l'analyte à tester avec un fluophore. L'analyte est mis en contact avec le réactif fixé localement sur le micro-système. S'il y a réaction/appariement de quelque nature que ce soit, il restera sur la zone de test l'analyte portant le 25 fluophore. Après lavage, une lecture de la fluorescence permettra de déterminer s'il y a eu appariement sur le site porteur.

#### Exposé de l'invention

30

Pour remédier aux problèmes de l'art antérieur, la présente invention propose l'utilisation d'une structure qui permet de fixer, en une seule étape d'électrocopolymérisation, des réactifs couplés à des

monomères de polymères conducteurs sur des sites électriquement connectés vers l'extérieur.

L'invention a donc pour objet un procédé de réalisation d'un micro-système à multiples points 5 d'analyse chimique ou biologique, comprenant les étapes . consistant à :

- a) coupler un réactif à un monomère de polymère conducteur,
- b) déposer une solution porteuse 10 électrolytique contenant un mélange dudit réactif couplé audit monomère de polymère conducteur et de monomère de polymère conducteur dans au moins une micro-cuvette parmi des micro-cuvettes formées sur une structure, chaque micro-cuvette possédant une électrode 15 de réception et une contre-électrode, la solution électrolytique étant déposée en quantité suffisante pour refermer un circuit électrochimique entre l'électrode de réception et la contre-électrode,
- c) appliquer un champ électrique entre 20 l'électrode de réception et la contre-électrode afin de copolymériser et de fixer, dans la micro-cuvette où la solution électrolytique a été déposée, ledit polymère conducteur muni du réactif à l'électrode de réception,
- d) rincer les micro-cuvettes de la 25 structure pour éliminer le restant de solution porteuse.

Les étapes a), b) et c) peuvent être répétées autant de fois qu'il est nécessaire pour déposer des réactifs différents dans des micro-cuvettes 30 différentes.

L'invention a aussi pour objet un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique constitué par une structure pourvue de micro-cuvettes, chaque micro-cuvette étant destinée à 35 recevoir un réactif couplé à un polymère conducteur,

chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception sur laquelle est fixé le réactif par l'intermédiaire du polymère conducteur auquel il est couplé, chaque micro-cuvette possédant une contre-  
5 électrode disposée de façon à pouvoir appliquer, dans un volume de la micro-cuvette, un champ électrique entre sa contre-électrode et son électrode de réception, la structure possédant des moyens permettent de relier simultanément toutes les électrodes de  
10 réception à un premier potentiel électrique et des moyens permettant de relier simultanément toutes les contre-électrodes à un deuxième potentiel électrique pour pouvoir établir ledit champ électrique.

Selon une première variante, la structure  
15 peut comporter un substrat passif dont une face est recouverte d'une première couche conductrice elle-même recouverte d'une première couche de matériau isolant, la première couche de matériau isolant comportant lesdites micro-cuvettes révélant la première couche  
20 conductrice qui forme lesdites électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une deuxième couche conductrice constituant une contre-électrode commune.

Selon une deuxième variante, la structure  
25 peut comporter un substrat actif dont une face présente lesdites électrodes de réception et est recouverte d'une première couche de matériau isolant comportant lesdites micro-cuvettes dont le fond correspond aux électrodes de réception, la première couche de matériau  
30 isolant supportant une couche conductrice constituant une contre-électrode commune, des moyens de multiplexage étant prévus pour relier simultanément toutes les électrodes de réception.

Une deuxième couche de matériau isolant  
35 peut recouvrir la couche conductrice constituant la

contre-électrode pour enterrer celle-ci. La deuxième couche isolante peut supporter une couche conductrice servant de pseudo-électrode de référence.

## 5 Brève description des dessins

L'invention sera mieux comprise et d'autres avantages et particularités apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée à titre 10 d'exemple non limitatif, accompagnée des figures annexées parmi lesquelles :

- les figures 1A à 1H représentent différentes étapes d'un procédé de réalisation d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou 15 biologique selon la présente invention,

- la figure 2 représente une variante d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention,

- les figures 3A à 3C illustrent des étapes 20 d'un autre procédé de réalisation d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention,

- la figure 4 représente encore une autre variante d'un micro-système à multiple points d'analyse 25 chimique ou biologique selon la présente invention.

## Description détaillée de modes de réalisation de l'invention.

30 Pour la réalisation du micro-système selon l'invention deux cas sont à considérer. La structure peut comporter un substrat passif, c'est-à-dire qu'il ne comporte pas d'électronique intégrée. Dans ce cas, le substrat peut être revêtu d'un plan conducteur (par 35 exemple métallique) lui-même recouvert d'une couche

d'un matériau assurant la fonction d'isolation électrique et dans lequel sont formées les micro-cavités. Celles-ci débouchent localement sur le plan conducteur. Les zones découvertes du plan conducteur constituent alors les électrodes de réception.

Le substrat peut aussi être actif auquel cas l'électronique qui lui est intégrée peut servir à différentes fonctions : chauffage localisé des sites, mesure locale de pH, lecture d'un signal de fluorescence, etc. Dans la plupart des cas, il n'est pas possible de laisser en court-circuit les sites pour les fonctions ultérieures qui doivent rester adressables sur chaque site indépendamment des autres.

Le multiplexage nécessaire à ces fonctions peut alors être utilisé au cours du procédé de réalisation du micro-système. Il est en effet possible d'adresser collectivement tous les sites pour effectuer l'opération de fixation des réactifs. Chaque site pourra ultérieurement être adressé de façon individuelle.

Les figures 1A à 1H sont des vues en coupe transversale et partielles. Elles illustrent un premier mode de réalisation d'un micro-système selon l'invention pour lequel la contre-électrode est située en surface et pour lequel le substrat est passif.

La figure 1A représente un substrat 1 constitué par une plaquette parallélépipédique qui peut être en un matériau tel que le verre, le silicium, le plastique. Sur une face principale de cette plaquette on a déposé une couche métallique 3, par exemple en chrome, en or ou en platine, d'une épaisseur comprise entre 0,1 et 10 µm. Comme le montre la figure 1B, on dépose, sur la couche métallique 3, un film de polymère

photosensible 5, par exemple un film de polyimide d'une épaisseur comprise entre 1 et 50 µm.

Des micro-cuvettes 7 sont ensuite formées par insolation et développement du film de polyimide 5 (voir la figure 1C). Elles sont avantageusement formées avec des flancs en pente. Les micro-cuvettes formées révèlent localement la couche métallique 3. Une nouvelle couche métallique 9 est alors uniformément déposée sur le film de polyimide y compris l'intérieur 10 des micro-cuvettes 7. La couche métallique 9 peut être en chrome, en or ou en platine et avoir 0,1 à 10 µm d'épaisseur.

Comme le montre la figure 1D, une couche de résine de masquage 11 est déposée sur la couche métallique 9 et des zones à graver dans cette couche métallique 9 sont définies.

La couche métallique 9 est alors gravée aux endroits accessibles et la résine 11 est retirée. On obtient la structure représentée à la figure 1E. Chaque 20 micro-cuvette 7 présente en son fond une électrode 9a, toutes les électrodes 9a étant connectées électriquement grâce à la couche métallique 3. Une électrode commune 9b recouvre la face supérieure du film de polymère 5.

Par une technique de microfluidique (micro-capillaire, plumier, tête d'impression du type à jet d'encre, etc.), on dépose dans chaque micro-cuvette 7 une solution porteuse d'un réactif. La figure 1F montre un système de distribution, représenté 30 schématiquement sous la référence 13, fournissant dans chaque micro-cuvette 7 une goutte 14, 15, 16 d'une solution électrolytique porteuse d'un mélange de réactif particulier couplé à un monomère et un monomère simple.

La figure 1G montre les gouttes 14, 15, 16 de solutions électrolytiques disposées dans les micro-cuvettes. Les micro-cuvettes empêchent le mélange des différentes solutions. Les quantités de solutions 5 électrolytiques sont telles qu'elles referment le circuit électrochimique entre les électrodes 9a et la contre-électrode 9b.

Par application d'un champ électrique approprié fourni par un générateur de tension 17 10 branché entre la couche métallique 3 et la contre-électrode 9b, on obtient la copolymérisation et la fixation des polymères conducteurs sur les électrodes 9a.

On procède ensuite à un rinçage des 15 micro-cuvettes 7 pour obtenir, dans chaque micro-cuvette, un réactif 14a, 15a, 16a fixé à une électrode 9a par un polymère conducteur portant le réactif.

Dans le cas où le substrat est actif, les 20 électrodes de réception du réactif ne peuvent généralement être reliées en permanence à une couche conductrice commune. Dans ce cas, comme cela est représenté à la figure 2, le substrat 21 est équipé à l'origine avec des électrodes de réception 22, 23, 24 25 isolées électriquement les unes des autres d'une manière générale mais pouvant être, grâce à un système de multiplexage, reliées collectivement à l'une des bornes d'un générateur de tension. Le reste de la structure est similaire à la structure décrite 30 précédemment : film de polymère photosensible 25 dans lequel sont formées des micro-cuvettes 27 et supportant une contre-électrode 29.

Les figures 3A à 3C illustrent la 35 réalisation d'une autre variante pour laquelle la contre-électrode est enterrée. Le contact entre la

solution électrolytique et l'électrode de réception se fait comme précédemment soit avec des électrodes de réception connectées en permanence à une couche conductrice commune, soit avec des électrodes de réception isolées électriquement les unes des autres mais pouvant être adressées simultanément par multiplexage. A titre d'exemple, les figures 3A à 3C illustrent le cas où les électrodes de réception sont connectées en permanence à une couche conductrice commune. Les premières étapes du procédé sont similaires à celles illustrées par les figures 1A et 1B et, pour cette raison, ne sont pas représentées.

La figure 3A montre le substrat 31 recouvert de la couche métallique 33 et du film de polymère photosensible 35 qui a été photolithographié et gravé, révélant ainsi la couche métallique 33 au fond de trous 36 réalisés dans le film 35.

On dépose ensuite sur la face supérieure de la structure une couche métallique, par exemple en chrome, en or ou en platine, d'une épaisseur comprise entre 0,1 et 10 µm. cette couche est photolithographiée et gravée pour laisser des zones 32 sur le film 35, ces zones 32 constituant la contre-électrode (voir la figure 3B).

Une autre couche de polymère 38 est alors déposée et gravée pour achever les micro-cuvettes. La gravure forme des trous 39 centrés sur les trous 36 et de diamètre plus grand. Elle laisse déborder dans les micro-cuvettes 37 la contre-électrode 32 (voir la figure 3C). Le fond métallisé 34 d'une micro-cuvette constitue une électrode de réception pour le micro-système.

La structure obtenue peut alors être traitée comme précédemment pour recevoir les réactifs

prévus. Cette structure offre un meilleur contact entre l'électrolyte et la contre-électrode.

Une variante à la structure qui vient d'être décrite consiste à introduire une troisième 5 électrode en surface pour servir de référence. Il peut s'agir d'une référence absolue (avec un gel) ou d'une pseudo-référence (par exemple Ti/TiO<sub>2</sub>). La cellule constituée comporte alors une électrode de réception, une contre-électrode et une électrode de référence. 10 Cette solution est représentée à la figure 4 qui montre : un substrat 41 (passif dans cet exemple), un plan conducteur 42 fournissant localement les électrodes de réception, la contre-électrode 43 et l'électrode de référence 44. On peut évidemment 15 intervertir les plans métalliques et laisser en surface la contre-électrode et en niveau intermédiaire l'électrode de référence.

L'invention procure l'avantage de la simplicité du dépôt des solutions électrolytiques par 20 une technique de fluide. Elle permet un mode de fixation particulièrement robuste et neutre chimiquement grâce à la copolymérisation des monomères. Un grand nombre de réactifs peuvent être facilement introduits puisque l'opération de copolymérisation et 25 de fixation est collective. Les monomères peuvent être couplés avec de nombreux types de corps chimiques et biologiques (glucose oxydase, antigènes, sondes ADN, etc.).

La solution offerte par l'invention est 30 compatible avec la synthèse in situ de sondes nucléiques par voie chimique décrite en début de description. La première base est fixée par électrocopolymérisation et la construction ultérieure est menée par voie chimique. Le polypyrrole est alors 35 un bon candidat à cause de sa grande stabilité

chimique. Ce mode de fixation est attractif car très robuste par comparaison à des fixations par silanisation par exemple.

Cette technique présente en outre  
5 l'avantage d'être compatible avec l'utilisation de substrats actifs en mettant en œuvre la fonction électronique intégrée pour l'étape d'électro-copolymérisation et de fixation collectives.

**REVENDICATIONS**

1. Procédé de réalisation d'un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique, comprenant les étapes consistant à :

5 a) coupler un réactif à un monomère de polymère conducteur,

10 b) déposer une solution porteuse électrolytique (14,15,16) contenant un mélange dudit réactif couplé audit monomère de polymère conducteur et de monomère de polymère conducteur dans au moins une micro-cuvette parmi des micro-cuvettes formées sur une structure, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception et une contre-électrode, la solution électrolytique étant déposée en quantité suffisante pour refermer un circuit électrochimique entre l'électrode de réception et la contre-électrode,

15 c) appliquer un champ électrique entre l'électrode de réception et la contre-électrode afin de copolymériser et de fixer, dans la micro-cuvette où la solution électrolytique a été déposée, ledit polymère conducteur muni du réactif à l'électrode de réception,

20 d) rincer les micro-cuvettes de la structure pour éliminer le restant de solution porteuse.

25 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les étapes a), b) et c) sont répétées autant de fois qu'il est nécessaire pour déposer des réactifs différents dans des micro-cuvettes différentes.

30 3. Micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique constitué par une structure pourvue de micro-cuvettes (7 ; 37), chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif (14a, 15a, 16a) couplé à un polymère conducteur, chaque

micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a ; 22, 23, 24 ; 34) sur laquelle est fixé le réactif par l'intermédiaire du polymère conducteur auquel il est couplé, chaque micro-cuvette possédant une contre-  
5 électrode disposée de façon à pouvoir appliquer, dans un volume de la micro-cuvette, un champ électrique entre sa contre-électrode et son électrode de réception, la structure possédant des moyens permettant de relier simultanément toutes les électrodes de  
10 réception à un premier potentiel électrique et des moyens permettant de relier simultanément toutes les contre-électrodes à un deuxième potentiel électrique pour pouvoir établir ledit champ électrique.

4. Micro-système selon la revendication 3,  
15 caractérisé en ce que la structure comporte un substrat passif (1) dont une face est recouverte d'une première couche conductrice (3) elle-même recouverte d'une première couche de matériau isolant (5), la première couche de matériau isolant comportant lesdites  
20 micro-cuvettes (7) révélant la première couche conductrice qui forme lesdites électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une deuxième couche conductrice (9) constituant une contre-électrode commune.

25 5. Micro-système selon la revendication 3, caractérisé en ce que la structure comporte un substrat actif (21) dont une face présente lesdites électrodes de réception (22, 23, 24) et est recouverte d'une première couche de matériau isolant (25) comportant lesdites micro-cuvettes (27) dont le fond correspond aux électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une couche conductrice constituante une contre-électrode (29) commune, des moyens de multiplexage étant prévus pour relier  
30 35 simultanément toutes les électrodes de réception.

6. Micro-système selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce qu'une deuxième couche de matériau isolant (38) recouvre la couche conductrice constituant la contre-électrode (32) pour enterrer celle-ci.

7. Micro-système selon la revendication 6, caractérisé en ce que la deuxième couche de matériau isolant (38) supporte une couche conductrice servant de pseudo-électrode de référence (44).

1/3

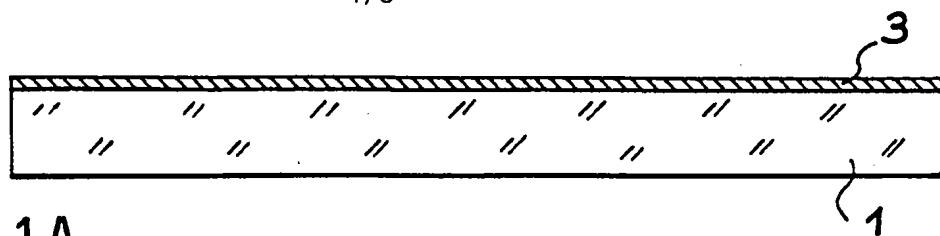


FIG. 1A

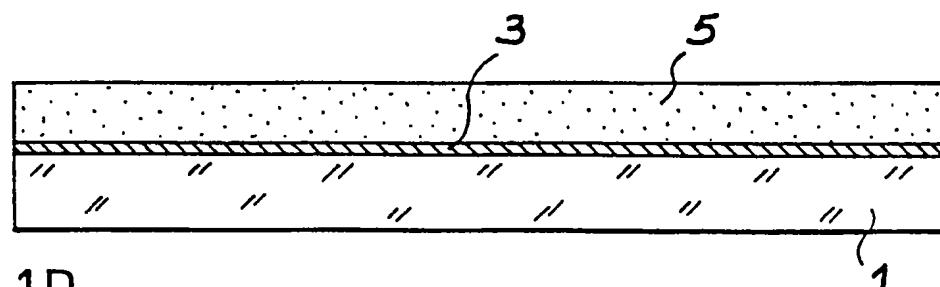


FIG. 1B

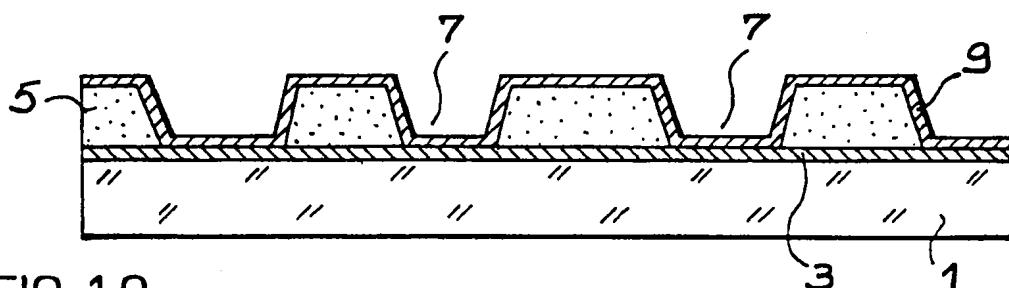


FIG. 1C

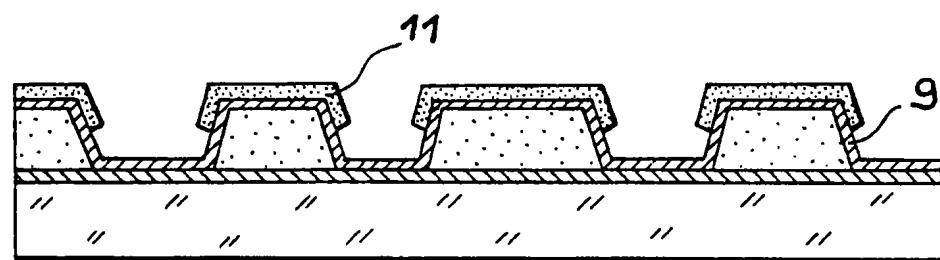


FIG. 1D

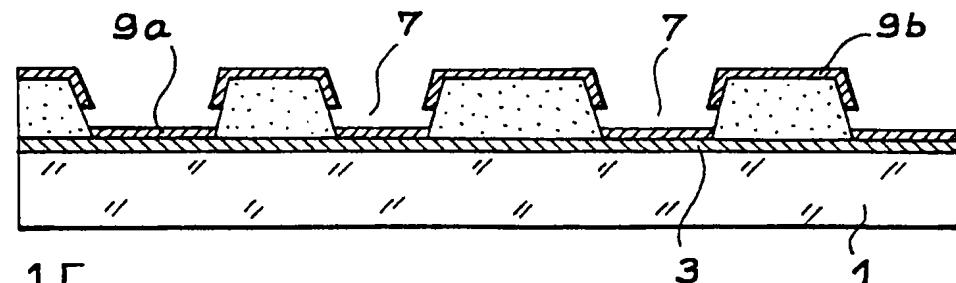


FIG. 1E

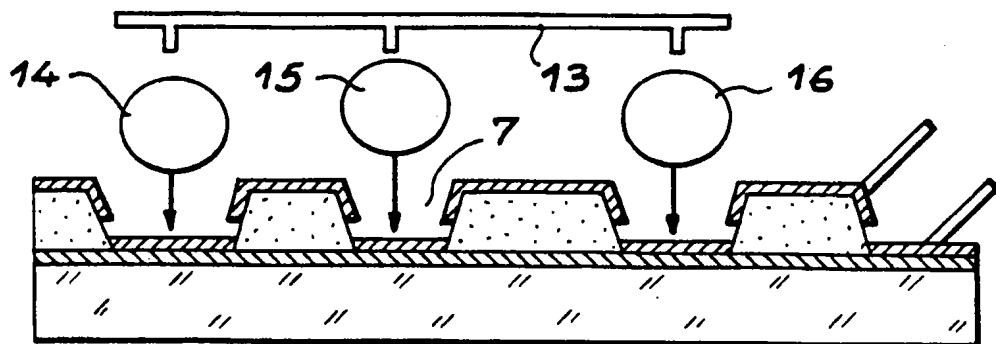


FIG. 1F

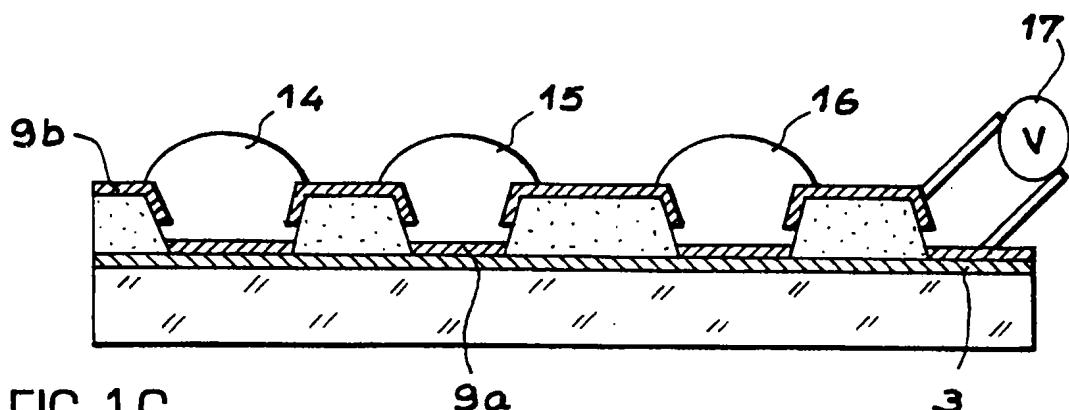


FIG. 1G

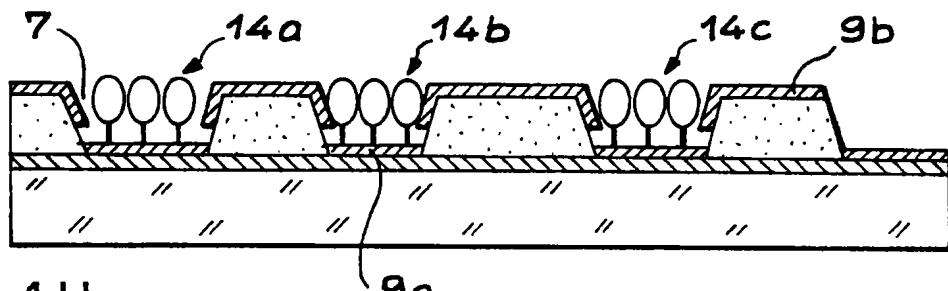


FIG. 1H

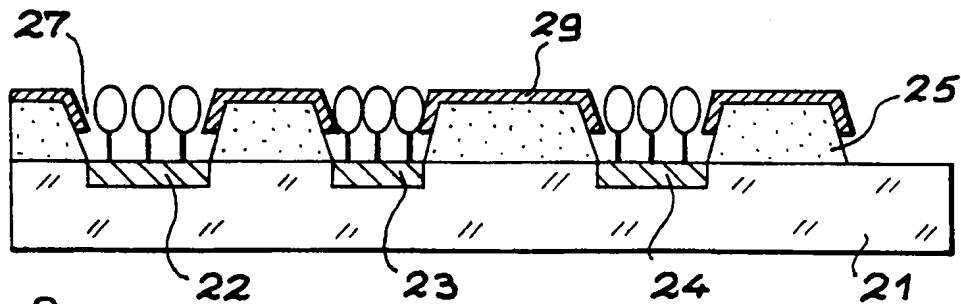


FIG. 2

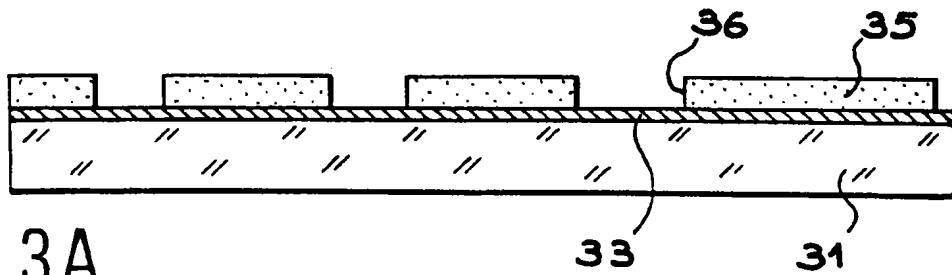


FIG. 3A

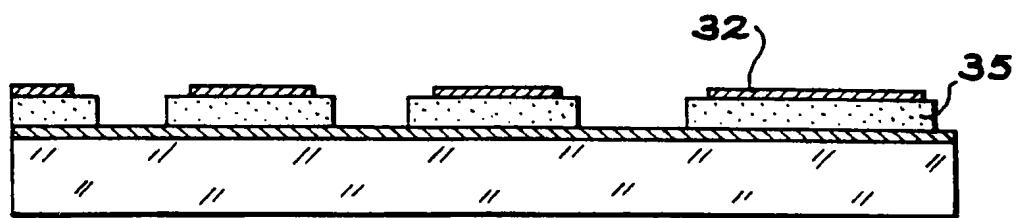


FIG. 3B

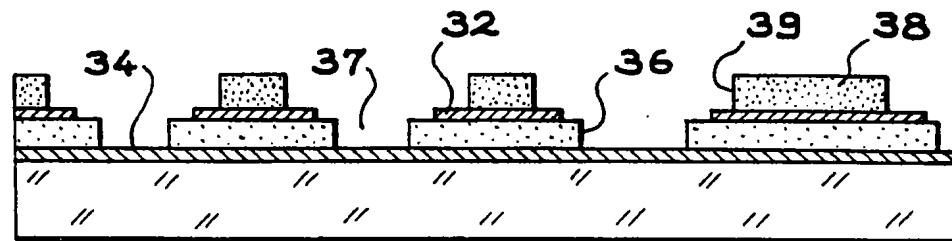


FIG. 3C

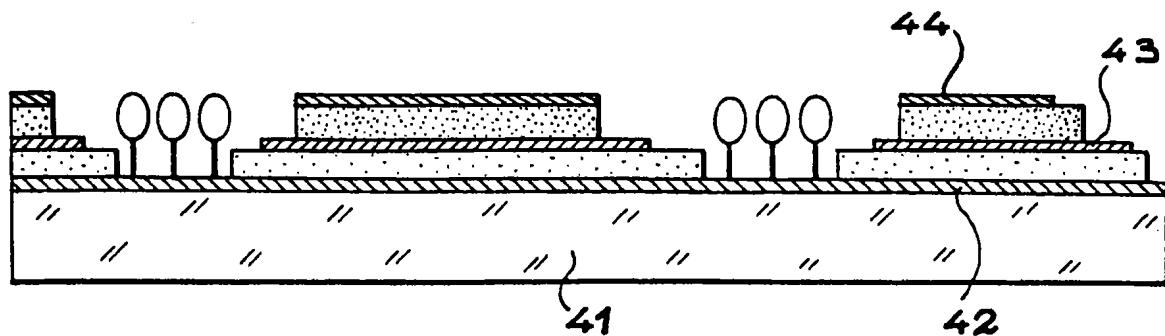


FIG. 4